

要約

〔目的〕

エストロゲンは女性における第二性徴の発現や生殖機能のみならず、全身臓器および組織の生理機能維持や、ある種の癌の増殖や抑制にも作用することが知られている。口腔扁平上皮癌では、エストロゲン受容体 (**Estrogen Receptor; ER**) の発現や、その生物学的な役割については未だに不明な点が多い。そこで本研究では口腔扁平上皮癌における **ER** の発現と、癌細胞におけるその調節機能の解明を目的として、臨床検体を用いた解析とヒト口腔扁平上皮癌細胞株を用いた細胞生物学的な解析を行い、口腔扁平上皮癌の増殖、浸潤ならびに治療抵抗性における **ER** の役割について検討を行った。

〔方法並びに成績〕

【材料と方法】

病理組織学的に口腔扁平上皮癌と診断された 52 症例について、**ER** の発現を免疫組織化学的に解析し、増殖マーカーである **Ki-67** の発現との関連を解析した。また、ヒト口腔扁平上皮癌細胞株 **Ca9-22**、**HSC-2**、**HSC-3** を用い、ウエスタンブロットおよびフローサイトメトリーによる **ER** の発現について解析を行った。また、**ER** のアゴニストである **β-Estradiol** 作用下で **ER** の細胞内局在の変化を蛍光免疫組織化学法により観察した。さらに **ER** を介したシグナルが口腔扁平上皮癌細胞の増殖や運動性、化学療法剤感受性にあたえる影響を評価するため、リガンド作用下での細胞増殖を **WST-1** 細胞増殖アッセイによりおよび **Ki-67** の発現レベルにより、細胞運動性を細胞遊走・浸潤試験により、化学療法剤 (シスプラチン、**5FU**、

ドセタキセル) 感受性およびアポトーシスへの影響を WST-1 細胞増殖アッセイおよびフローサイトメトリーにより、それぞれ解析した。

【結果】

口腔扁平上皮癌 52 症例について、観察したすべての症例で腫瘍細胞に ER β の発現を認めたが、ER α の発現は全例で認められなかった。ER β の発現は、正常組織では傍基底層から棘細胞層に認めるがその上方で減弱し、上皮性異形成では角化層を除く全層で認められた。また、癌部では染色性が増強し、高分化癌では角化の強い癌真珠中心部を除く腫瘍細胞で認められ、低分化癌では腫瘍全体に発現がみられた。また、Ki-67 発現領域は ER β の発現領域内で観察された。

口腔扁平上皮癌細胞株 Ca9-22、HSC-2、HSC-3 についてウエスタンブロットおよびフローサイトメトリーで ER α および ER β の発現レベルについて解析を行った結果、いずれの癌細胞でも ER α および ER β の発現を認めた。また、それらの細胞に β -Estradiol を添加し、24 時間後に蛍光抗体法を用いて免疫組織学的に解析を行ったところ、Ca9-22 および HSC-2 では ER α の細胞質内発現の増加が認められ、ER β の核内への移動が観察された。HSC-3 では発現の増加や局在の変化は明らかではなかった。

細胞増殖試験による解析の結果、全ての細胞で、 β -Estradiol 添加により細胞増殖が有意に増強し、細胞内の Ki-67 の発現も亢進した。また、細胞浸潤試験の結果、全ての細胞株で β -Estradiol 添加により細胞浸潤が有意に増強することが確認された。また、化学療法剤（シスプラチン、5 FU、ドセタキセル）を添加した細胞で、 β -Estradiol を添加したところ化学療

法剤による細胞抑制効果が減弱し、アポトーシスの誘導効果が減弱することが確認された。

【総括】

臨床検体を用いた免疫組織学的な解析により、**ER8**が癌部で強陽性を示し、その領域内で**Ki-67**が観察された。また、癌細胞株を用いた解析では、解析をした全ての細胞株で**ERα**および**ER8**の発現を認め、アゴニストでの刺激によって、細胞増殖や浸潤性が亢進し、各種化学療法剤による増殖抑制効果やアポトーシスの誘導が減弱することが示された。以上の結果により口腔扁平上皮癌における**ER**を介した腫瘍特性の一端が示され、**ER**シグナルを標的とした新たな診断法や治療法の開発につながる可能性が示唆された。